

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only

International Application No.

International Filing Date

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference
(if desired) (12 characters maximum)

95041PCT

Box No. I TITLE OF INVENTION

SEPARATING AGENT

Box No. II APPLICANT

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

Daicel Chemical Industries, Ltd.
1, Teppo-cho, Sakai-shi
Osaka 490, Japan

☐ This person is also inventor.

Telephone No.

(0722) 27-3101

Facsimile No.

Teleprinter No.

State (i.e. country) of nationality:

Japan

State (i.e. country) of residence:

Japan

This person is applicant
for the purposes of:

☐

all designated
States

☒

all designated States except
the United States of America

☐

the United States
of America only

☐

the States indicated in
the Supplemental Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

MURAKAMI, Tatsushi
198-1, Okidai, Taishicho
Ibo-gun, Hyogo 671-15
Japan

This person is:

☐ applicant only

☒ applicant and inventor

☐ inventor only (If this check-box
is marked, do not fill in below.)

State (i.e. country) of nationality:

Japan

State (i.e. country) of residence:

Japan

This person is applicant
for the purposes of:

☐

all designated
States

☐

all designated States except
the United States of America

☒

the United States
of America only

☐

the States indicated in
the Supplemental Box

☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf
of the applicant(s) before the competent International Authorities as:

☒

agent

☐

common representative

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

FURUYA, Kaoru
MIZOBE, Takahiko
Nihonbashi TM Building
1-8-11, Nihonbashi-Horidomecho
Chuo-ku, Tokyo 103
Japan

Telephone No.

(03) 3663-7808

Facsimile No.

(03) 3639-0419

Teleprinter No.

KAORU J 25747

☐ Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Box No.V DESIGNATION OF STATES

The following designations are hereby made under Rule 4.9(a) (mark the applicable check-boxes; at least one must be marked):

Regional Patent

- ☐ AP ARIPO Patent: KE Kenya, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swaziland and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT
- ☒ EP European Patent: AT Austria, BE Belgium, CH and LI Switzerland and Liechtenstein, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT
- ☐ OA OAPI Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)

National Patent (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line):

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> AM Armenia | <input type="checkbox"/> MD Republic of Moldova |
| <input type="checkbox"/> AT Austria | <input type="checkbox"/> MG Madagascar |
| <input type="checkbox"/> AU Australia | <input type="checkbox"/> MN Mongolia |
| <input type="checkbox"/> BB Barbados | <input type="checkbox"/> MW Malawi |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgaria | <input type="checkbox"/> MX Mexico |
| <input type="checkbox"/> BR Brazil | <input type="checkbox"/> NL Netherlands |
| <input type="checkbox"/> BY Belarus | <input type="checkbox"/> NO Norway |
| <input type="checkbox"/> CA Canada | <input type="checkbox"/> NZ New Zealand |
| <input type="checkbox"/> CH and LI Switzerland and Liechtenstein | <input type="checkbox"/> PL Poland |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN China | <input type="checkbox"/> PT Portugal |
| <input type="checkbox"/> CZ Czech Republic | <input type="checkbox"/> RO Romania |
| <input type="checkbox"/> DE Germany | <input type="checkbox"/> RU Russian Federation |
| <input type="checkbox"/> DK Denmark | <input type="checkbox"/> SD Sudan |
| <input type="checkbox"/> EE Estonia | <input type="checkbox"/> SE Sweden |
| <input type="checkbox"/> ES Spain | <input type="checkbox"/> SI Slovenia |
| <input type="checkbox"/> FI Finland | <input type="checkbox"/> SK Slovakia |
| <input type="checkbox"/> GB United Kingdom | <input type="checkbox"/> TJ Tajikistan |
| <input type="checkbox"/> GE Georgia | <input type="checkbox"/> TT Trinidad and Tobago |
| <input type="checkbox"/> HU Hungary | <input type="checkbox"/> UA Ukraine |
| <input type="checkbox"/> JP Japan | <input checked="" type="checkbox"/> US United States of America |
| <input type="checkbox"/> KE Kenya | |
| <input type="checkbox"/> KG Kyrgyzstan | <input type="checkbox"/> UZ Uzbekistan |
| <input type="checkbox"/> KP Democratic People's Republic of Korea | <input type="checkbox"/> VN Viet Nam |
| | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR Republic of Korea | |
| <input type="checkbox"/> KZ Kazakhstan | |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka | |
| <input type="checkbox"/> LR Liberia | |
| <input type="checkbox"/> LT Lithuania | |
| <input type="checkbox"/> LU Luxembourg | |
| <input type="checkbox"/> LV Latvia | |

Check-boxes reserved for designating States (for the purposes of a national patent) which have become States party to the PCT after issuance of this sheet:

- ☐
- ☐
- ☐
- ☐
- ☐

In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all designations which would be permitted under the PCT except the designation(s) of
 The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying that designation and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.)

EP

US

特許協力条約

PCT

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
(PCT18条、PCT規則43、44)

| | | | |
|-----------------------------|----------|---|----------------|
| 出願人又は代理人 の書類記号 | 95041PCT | 今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知(様式PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。 | |
| 国際出願番号 PCT/JP | 95/01355 | 国際出願日 (日.月.年) | 優先日 (日.月.年) |
| | | 06.07.95 | 07.07.94 |
| 出願人(氏名又は名称) ダイセル化学工業株式会社 | | | |

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

2. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

3. ☐ この国際出願は、ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願と共に提出されたもの

☐ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの

☐ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない

☐ この国際調査機関が書換えたもの

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
第 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。
☐ 出願人は図を示さなかった。
☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。
☒ なし

Box No. VI PRIORITY CLAIMFurther priority claims are indicated in the Supplemental Box ☐

The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:

| Country (in which, or for which, the application was filed) | Filing Date (day/month/year) | Application No. | Office of filing (only for regional or international application) |
|---|---------------------------------|-----------------|---|
| item (1) Japan | 07.07.94 | 6-155596 | |
| item (2) | | | |
| item (3) | | | |

Mark the following check-box if the certified copy of the earlier application is to be issued by the Office which for the purposes of the present international application is the receiving Office (a fee may be required):

☐ The receiving Office is hereby requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) identified above as item(s): _____
Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

Choice of International Searching Authority (ISA) (If two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used): ISA / JP

Earlier search Fill in where a search (international, international-type or other) by the International Searching Authority has already been carried out or requested and the Authority is now requested to base the international search, to the extent possible, on the results of that earlier search. Identify such search or request either by reference to the relevant application (or the translation thereof) or by reference to the search request:

Country (or regional Office):

Date (day/month/year):

Number:

Box No. VIII CHECK LIST

This international application contains the following number of sheets:

1. request : 3 sheets
 2. description : 9 sheets
 3. claims : 1 sheets
 4. abstract : 1 sheets
 5. drawings : _____ sheets

Total : 14 sheets

This international application is accompanied by the item(s) marked below:

1. ☒ separate signed power of attorney
 2. ☐ copy of general power of attorney
 3. ☐ statement explaining lack of signature
 4. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):
 5. ☒ fee calculation sheet
 6. ☐ separate indications concerning deposited microorganisms
 7. ☐ nucleotide and/or amino acid sequence listing (diskette)
 8. ☐ other (specify):

Figure No. _____ of the drawings (if any) should accompany the abstract when it is published.

Box No. IX SIGNATURE OF APPLICANT OR AGENT

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).

| | | |
|---|---|--|
| For receiving Office use only | | 2. Drawings: <input type="checkbox"/> received: <input type="checkbox"/> not received: |
| 1. Date of actual receipt of the purported international application: | | |
| 3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application: | | |
| 4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2): | | |
| 5. International Searching Authority specified by the applicant: ISA / JP | 6. <input type="checkbox"/> Transmittal of search copy delayed until search fee is paid | |

| |
|---|
| For International Bureau use only |
| Date of receipt of the record copy by the International Bureau: |

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int C² G 01 N 30 / 48, C 07 B 57 / 00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int C² G 01 N 30 / 48, C 07 B 57 / 00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1995年
日本国公開実用新案公報 1971-1995年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|------------------|
| A | JP, 62-230740, A (帝人株式会社), 9. 10月. 1987 (09. 10. 87), 第4頁左上欄, 第7行-第12行 (ファミリーなし) | 1-6 |
| P | JP, 6-279476, A (田中貴金属工業株式会社), 4. 10月. 1994 (04. 10. 94), 第1欄, 第34行-第2欄, 第22行 (ファミリーなし) | 3, 4, 6 |
| P | JP, 6-329561, A (ダイセル化学工業株式会社), | 3-6 |

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日
若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献
(理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日
の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と
矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のため
に引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規
性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文
献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性
がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27. 07. 95

国際調査報告の発送日

15. 08. 95

名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

柏崎康司

2 J 9 4 0 7

電話番号 03-3581-1101 内線

3251

C (続き) . 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|------------------|
| | <p>29. 11月. 1994 (29. 11. 94), 第1欄, 第21行—第25行及び第4欄, 第47行—第5欄, 第2行 (ファミリーなし)</p> | |



European Patent
Office

SUPPLEMENTARY
EUROPEAN SEARCH REPORT

Application Number
EP 95 92 4517

| DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | | |
|---|--|---|--|
| Category | Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages | Relevant to claim | CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.6) |
| Y | EP-A-0 527 235 (DAICEL CHEMICAL) 17 February 1993 * page 2, line 1 - page 3, line 46 * | 1-6 | G01N30/48 C07B57/00 B01J20/32 |
| Y | US-A-5 302 633 (KIMATA) 12 April 1994 * column 10; claims 1-6 * | 1-6 | |
| A | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 13, no. 532 (C-659) & JP-A-01 216943 (MITSUI TOATU CHEM.), 30 August 1989, * abstract * | 1 | |
| A | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 17, no. 704 (C-1146) & JP-A-05 239103 (DAICEL CHEM), 17 September 1993, * abstract * | 1 | |
| | | | TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.Cl.6) |
| | | | G01N B01J C07B |
| The supplementary search report has been drawn up for the claims attached hereto. | | | |
| Place of search THE HAGUE | | Date of completion of the search 29 January 1997 | Examiner Wendling, J-P |
| CATEGORY OF CITED DOCUMENTS | | | |
| X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document | | T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons & : member of the same patent family, corresponding document | |

95920511 E

2/7/77

6/3/77

CLAIMS

1. A separating agent which comprises a polysaccharide derivative having an Mw/Mn (wherein Mw and Mn represent the weight-average molecular weight calculated as polystyrene and the number-average molecular weight calculated as polystyrene, respectively), which indicates the extent of molecular weight distribution, of 1 to 3.
2. The separating agent according to Claim 1, wherein the polysaccharide derivative has a weight-average molecular weight, calculated as polystyrene, of 20,000 to 500,000.
3. The separating agent according to Claim 1, wherein the polysaccharide derivative is an ester derivative thereof or a carbamate derivative thereof.
4. The separating agent according to Claim 1, which further comprises a support, and wherein the polysaccharide is supported on the support.
5. The separating agent according to Claim 4, wherein the support is a silica gel having a particle diameter of 1 μ m to 10 mm and a pore diameter of 10 Å to 100 μ m.
6. The separating agent according to Claim 4, which is used as a column packing for liquid chromatography.

ANNEX TO THE EUROPEAN SEARCH REPORT
ON EUROPEAN PATENT APPLICATION NO.

EP 95 92 4517

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned European search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

29-01-1997

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| EP-A-527235 | 17-02-93 | WO-A- 9215616 | 17-09-92 |
| | | US-A- 5491223 | 13-02-96 |
| ----- | | | |
| US-A-5302633 | 12-04-94 | JP-B- 2535446 | 18-09-96 |
| | | JP-A- 4202141 | 22-07-92 |
| ----- | | | |

081583062

PCT

世界知的所有権機関

国際事務局



特許協力条約に基づいて公開された国際出願

| | | |
|--|-----------|--|
| (51) 国際特許分類6 G01N 30/48, C07B 57/00 | A1 | (11) 国際公開番号 WO96/01995 (43) 国際公開日 1996年1月25日(25.01.96) |
| (21) 国際出願番号 PCT/JP95/01355 (22) 国際出願日 1995年7月6日(06.07.95) (30) 優先権データ 特願平6/155596 1994年7月7日(07.07.94) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) ダイセル化学工業株式会社 (DAICEL CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.)(JP/JP) 〒590 大阪府堺市鉄砲町1番地 Osaka, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 村上達史(MURAKAMI, Tatsushi)(JP/JP) 〒671-15 兵庫県揖保郡太子町沖代198-1 Hyogo, (JP) (74) 代理人 弁理士 古谷 馨, 外(FURUYA, Kaoru et al.) 〒103 東京都中央区日本橋堀留町1-8-11 日本橋TMビル Tokyo, (JP) | | (81) 指定国 CN, KR, US, 欧州特許(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書 |
| (54) Title : SEPARATING AGENT (54) 発明の名称 分離剤 (57) Abstract A separating agent comprising a polysaccharide derivative having a molecular weight distribution of 1 to 3 in terms of Mw/Mn (wherein Mw and Mn represents, respectively, weight-average and number-average molecular weights thereof in terms of polystyrene). A liquid chromatography using this agent as the packing material assures a good base line stability, permits the use of a large variety of solvents as the eluent, and does not cause elution of low-molecular-weight polysaccharide derivatives. | | |

(57) 要約

その分子量分布の程度を示す M_w / M_n (ここで、 M_w 及び M_n は、ポリスチレン換算の重量平均分子量及びポリスチレン換算の数平均分子量をそれぞれ示す) が 1 ~ 3 の多糖誘導体からなる分離剤。

この分離剤を充填剤として用いて液体クロマトグラフィーを行うと、ベースラインの安定性がよく、溶離液として使用できる溶媒の種類が多く、かつ、低分子量の多糖誘導体の溶出がない。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願をパンフレット第一頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

| | | | | | | | |
|----|-----------|----|-------------|----|----------|----|------------|
| AL | アルバニア | DK | デンマーク | LK | スリランカ | PT | ポルトガル |
| AM | アルメニア | EE | エストニア | LR | リベリア | RO | ルーマニア |
| AU | オーストラリア | ES | スペイン | LT | リトアニア | RU | ロシア連邦 |
| AZ | アゼルバイジャン | FI | フィンランド | LS | レソト | SD | スーダン |
| BB | バルバドス | FR | フランス | LU | ルクセンブルグ | SE | スウェーデン |
| BE | ベルギー | GA | ガボン | LV | ラトヴィア | SG | シンガポール |
| BG | ブルガリア | GB | イギリス | MC | モナコ | SK | スロバキア共和国 |
| BJ | ベナン | GE | グルジア | MD | モルドバ | SN | セネガル |
| BR | ブラジル | GN | ギニア | MG | マダガスカル | SZ | スワジランド |
| BY | ベラルーシ | GR | ギリシャ | MK | マケドニア共和国 | TD | チュニジア |
| CA | カナダ | HU | ハンガリー | ML | マリ | TG | トーゴ |
| CF | 中央アフリカ共和国 | IE | アイルランド | MN | モンゴル | TJ | タジキスタン |
| CG | コンゴ | IT | イタリア | MR | モーリタニア | TM | トルクメニスタン |
| CH | スイス | JP | 日本 | MW | マラウイ | TR | トルコ |
| CI | コート・ジボアール | KE | ケニア | MX | メキシコ | TT | トリニダード・トバゴ |
| CM | カメルーン | KG | キルギスタン | NE | ニジェール | UG | ウガンダ |
| CN | 中国 | KP | 朝鮮民主主義人民共和国 | NL | オランダ | US | 米国 |
| CZ | チェコ共和国 | KR | 大韓民国 | NO | ノルウェー | UZ | ウズベキスタン共和国 |
| DE | ドイツ | KZ | カザフスタン | NZ | ニュージーランド | VN | ベトナム |
| | | LI | リヒテンシュタイン | PL | ポーランド | | |

明細書

分離剤

発明の分野

本発明は、ラセミ体の光学分割に有用な分離剤に関するものである。

関連技術の記述

多糖誘導体からなる充填剤が、光学異性体用分離剤として有用であることは、従来から知られている[Y. OKAMOTO, M. KAWASHIMA and K. HATADA, J. Am. Chem. Soc., 106, 53 ~ 57 (1984)及び特公昭63-12850号公報参照]。多糖誘導体は、ラセミ体に対する光学分割能が非常に高く、通常は、シリカゲルに担持せられて、光学異性体の分析や分取に広く使われている。しかしながら、従来技術における多糖誘導体は、その分子量分布が広いため、カラムから低分子量の多糖誘導体が溶出する、カラム操作時、ベースラインの安定性に欠ける、溶離液として使用できる溶媒の範囲が狭い(即ち、溶媒の種類に限られる)といった問題を有している。

従って、本発明の目的は、多糖誘導体からなる分離剤であって、カラム操作時のベースラインの安定性がよく、それから低分子量の多糖誘導体が溶出せず、それと共に、多種類の溶媒(溶離液)を使用できるものを提供することにある。

発明の概要

本発明者は、多糖誘導体のもつ有用な性質が最大限に発揮されており、かつ、上記の問題が克服されてなる分離剤を求めて、鋭意研究した。その結果、本発明者は、下記本発明に到達した。

即ち、本発明は、その分子量分布の程度を示す M_w/M_n (ここで、 M_w 及び M_n は、ポリスチレン換算の重量平均分子量及びポリスチレン換算の数平均分子量をそれぞれ示す)が1~3の多糖誘導体からなる分離剤を提供する。

換言すれば、本発明は、分子量分布の程度を示す値 M_w/M_n (M_w は重量平

均分子量、 M_n は数平均分子量（ポリスチレン換算）が1～3の多糖誘導体からなる分離剤に関する。

以下に、本発明を詳細に説明する。

発明の詳細な説明

本発明における多糖は、合成多糖、天然多糖及び天然物変性多糖のいずれであるかを問わず、光学活性であればよい。多糖として、その結合様式の規則性の高いものを用いるのが好ましい。多糖の例として、 β -1, 4-グルカン（セルロース）、 α -1, 4-グルカン（アミロース、アミロペクチン）、 α -1, 6-グルカン（デキストラン）、 β -1, 6-グルカン（プスツラン）、 β -1, 3-グルカン（カードラン、シゾフィラン）、 α -1, 3-グルカン、 β -1, 2-グルカン（Crown Gall多糖）、 β -1, 4-ガラクトン、 β -1, 4-マンナン、 α -1, 6-マンナン、 β -1, 2-フラクタン（イヌリン）、 β -2, 6-フラクタン（レバン）、 β -1, 4-キシラン、 β -1, 3-キシラン、 β -1, 4-キトサン、 β -1, 4-N-アセチルキトサン（キチン）、プルラン、アガロース、アルギン酸、 α -シクロデキストリン、 β -シクロデキストリン、 γ -シクロデキストリンが挙げられ、加えて、アミロースを含有する澱粉も、多糖の例に含まれる。この中で、好ましいものは、高純度品を容易に得ることができることから、セルロース、アミロース、 β -1, 4-キトサン、キチン、 β -1, 4-マンナン、 β -1, 4-キシラン、イヌリン及びカードランであり、さらに好ましいものは、セルロース及びアミロースである。

本発明における多糖は、その平均重合度（1分子中に含まれるピラノース環又はフラノース環の平均数）が5以上であることが好ましく、10以上であることが更に好ましい。多糖の平均重合度に特に上限はないが、500以下であることが、その取り扱いの容易さの観点から好ましい。

本発明の多糖誘導体を製造するための原料として用いられる多糖は、単分散であることが好ましい。このような単分散の多糖は、酵素法で合成することにより得ることができる。天然多糖は、分子量分布の巾が広いので、本発明の多糖誘導体の原料として用いるには、高度の分別精製が必要である。

本発明における多糖誘導体は、多糖を、多糖の水酸基と反応し得る官能基を有する化合物と、公知の方法で反応させて得られる。即ち、多糖誘導体は、多糖が、前記化合物と、エステル結合、ウレタン結合などを通して結合してなる。

水酸基と反応し得る官能基を有する化合物の例としては、脂肪族、脂環族、芳香族及びヘテロ芳香族イソシアン酸誘導体類、カルボン酸類、エステル類、酸ハライド類、酸アミド類、ハロゲン化物類、エポキシド類、アルデヒド類、アルコール類、及びその他の脱離基を有する化合物が挙げられる。

多糖誘導体として特に好ましいものは、多糖のエステル誘導体及びカルバメート誘導体である。

高分子物質は、一般に、重合同族列の混合物である。即ち、高分子物質は、重合度または分子量が互いに異なる多数の分子からなる。高分子物質における分子量の広がり、分子量分布といい、その広がり具合は、分子量分布曲線で示される。平均分子量には、重量平均分子量 (M_w) と数平均分子量 (M_n) があり、単位体積中に、 M_i なる分子量の分子が N_i 個存在するものとすれば、それらは各々次式で定義される：

$$M_w = \sum (M_i^2 \cdot N_i) / \sum (M_i \cdot N_i) \text{、及び}$$

$$M_n = \sum (M_i \cdot N_i) / \sum (N_i) \text{。}$$

本発明における多糖誘導体は、その重量平均分子量 (ポリスチレン換算) が、好ましくは 1,000 ~ 500,000、更に好ましくは 20,000 ~ 500,000 である。

重量平均分子量の数平均分子量に対する比率、 M_w / M_n は、分子量分布が広いときに、大きい値を示す。従って、この数値は、分子量分布の程度を示す。また、 M_w / M_n は、高分子物質の分子量分布が単分散に近い程、1 に近づく。本発明の多糖誘導体は、その分子量分布の巾が狭いという特徴を有する。具体的には、それは、 M_w / M_n が 1 ~ 3 である。 M_w / M_n がこの範囲内にある多糖誘導体を、光学異性体分離用液体クロマトグラフィーカラムの充填剤として用いると、低分子量の多糖誘導体の溶出がなく、本発明の目的の一つが達せられる。

本発明における多糖誘導体を、液体クロマトグラフィー用充填剤として使用するには、それをそのままカラムに充填するか、あるいはそれを担体に担持させて

から充填する。

充填剤は粒状であることが好ましいことから、多糖誘導体をそのまま充填剤として用いるときは、多糖誘導体を破碎するか、ビーズ状にすることが好ましい。粒子の大きさは、使用される、即ち多糖誘導体が充填される、カラムの大きさによって異なるが、通常は $1\mu\text{m}\sim 10\text{mm}$ であり、好ましくは $1\sim 300\mu\text{m}$ である。また、粒子は、多孔質であることが好ましい。

分離剤の耐圧能力の向上、収縮の防止、理論段数の向上のために、本発明における多糖誘導体は、担体に担持せられて用いられることが好ましい。適当な担体の大きさ（粒径）は、一般的には $1\mu\text{m}\sim 10\text{mm}$ であり、好ましくは $1\mu\text{m}\sim 300\mu\text{m}$ である。担体は、多孔質であることが好ましく、その場合、平均孔径は、好ましくは 10 オングストローム $\sim 100\mu\text{m}$ であり、更に好ましくは $50\sim 50,000$ オングストロームである。担体の材質の例としては、シリカゲル、アルミナなどの無機物質、ポリスチレン、ポリアクリルアミドなどの有機物質が挙げられ、好ましくはシリカゲルである。

本発明の多糖誘導体からなる分離剤は、その使用時に、低分子量の多糖誘導体の溶出が殆どない。また、それをカラムに充填して用いた場合、ベースラインの安定性に優れるため、即ちベースラインの安定化時間が短いため、光学分割における操作時間が非常に短縮される。更に、従来の光学分割では、溶離液として使用できる溶媒の範囲が、ヘキサン、エタノール、プロパノールなどに限られていたが、本発明の多糖誘導体を用いれば、溶離液として、上記溶媒に加え、他の溶媒も使用可能である。

実施例

以下に、実施例を参照して本発明を詳細に説明する。但し、本発明は、これらの実施例によって限定されるものではない。

実施例 1

<多糖誘導体の合成>

合成単分散アミロース [$M_w/M_n < 1.1$ 、 $M_w = 24,848$ (M_w 、 M_n の両者共に、光散乱法・超遠心沈降平衡法から算出)] 2g を、ピリジン中

で、3, 5-ジメチルフェニルイソシアネート 17 g と加熱下 30 時間反応させた。得られた反応生成物を、攪拌下メタノール中に注ぎ込み、沈澱させた。その沈澱物を、G4 グラスフィルターで濾取した。得られた物を、メタノールで 2 回洗浄し、その後、80 °C で 5 時間真空乾燥した。得られた生成物に、クロロホルムとジメチルアセトアミドを加え、完全に溶解させた。得られた溶液を、攪拌下、再びメタノールに注ぎ込み、沈澱させた。その沈澱物を、G4 グラスフィルターで濾取した。得られた物を、メタノールで 2 回洗浄し、その後、80 °C で 5 時間、真空乾燥した。このようにして、精製された生成物であるアミローストリス (3, 5-ジメチルフェニルカルバメート) を得た。当該生成物の M_w/M_n は 1.22、 M_w は 55,500 [M_w 、 M_n の両者共に、示差屈折率測定法 (ポリスチレン換算) にて測定] であった。

<多糖誘導体のシリカゲルへの担持>

上記のアミローストリス (3, 5-ジメチルフェニルカルバメート) を、クロロホルムとジメチルアセトアミドの混合物に溶解させた。得られた溶液を、カルバモイル処理が施されたシリカゲル (ダイソー製、粒径: 7 μ m、孔径: 1,000 オングストローム) に均一にふりかけ、その後、溶媒を留去した。このようにして、アミローストリス (3, 5-ジメチルフェニルカルバメート) をシリカゲルへ担持させた。

<光学分割カラムの作製>

上記のアミローストリス (3, 5-ジメチルフェニルカルバメート) がシリカゲルに担持されてなる分離剤を、その長さが 25 cm、内径が 0.46 cm のステンレススチール製カラムに、スラリー充填法で充填した。このようにして、光学分割カラムを作製した。

<光学分割カラムの性能評価>

上記の光学分割カラムを用いて、標準化合物であるトランススチルベンオキシドの光学分割実験を行った。性能評価に際し、日本分光製 JASCO 875-UV を使用し、溶離液はヘキサンと 2-プロパノール [90/10 (v/v)] の混合物、流速は 1.0 ml/分、温度は 25 °C の条件を採用した。結果を表 1 に示す。

なお、表中における用語の定義は次の通りである：

分離係数 (α) :

より強く吸着される対掌体の容量比 / より弱く吸着される対掌体の容量比、

分離度 (R_s) :

$2 \times$ (より強く吸着される対掌体のピークとより弱く吸着される対掌体のピークとの間の距離) / 両ピークのバンド巾の合計、

ベースラインの安定化時間 :

UV 検出器の感度を 0.16、レコーダーのフルスケールを 10 mV に設定し、ベースラインが 30 分間水平を保ったときを安定したとみなすという条件下で、溶離液の通し始めから安定までに要する時間をいう (例えば、溶離液を通液し始めた時の 30 分後からベースラインが水平になったときは、安定化時間は 1 時間である。)、及び

溶出量 :

溶離液として、ヘキサンとエタノール [75 / 25 (v / v)] の混合物を、流速 1.0 ml / 分、温度 40 °C の条件下で 10 時間通液し、その排出液を集めてその全量を濃縮したときに、得られた残渣の量をいう。

実施例 2

< 多糖誘導体の合成 >

合成単分散アミロース [$M_w / M_n < 1.1$ 、 $M_w = 27,603$ (M_w 、 M_n の両者共に、光散乱法・超遠心沈降平衡法から算出)] を用いたこと以外は、実施例 1 と同様の方法で、アミローストリス (3, 5-ジメチルフェニルカルバメート) を得た。当該生成物の M_w / M_n は 1.25、 M_w は 54,300 [M_w 、 M_n の両者共に、示差屈折率測定法 (ポリスチレン換算) にて測定] であった。

< 多糖誘導体のシリカゲルへの担持 >

上記のアミローストリス (3, 5-ジメチルフェニルカルバメート) を、実施例 1 と同様の方法で、実施例 1 で用いたのと同様のシリカゲルへ担持させた。

< 光学分割カラムの作製 >

上記のアミローストリス (3, 5-ジメチルフェニルカルバメート) がシリカ

ゲルに担持されてなる分離剤を用いたこと以外は実施例 1 と同様の方法で、光学分割カラムを作製した。

<光学分割カラムの性能評価>

上記の光学分割カラムを用いて、実施例 1 と同様にして、標準化合物であるトランススチルベンオキシドの光学分割実験を行った。結果を表 1 に示す。

実施例 3

<多糖誘導体の合成>

合成単分散アミロース [$M_w/M_n < 1.1$ 、 $M_w = 52,268$ (M_w 、 M_n の両者共に、光散乱法・超遠心沈降平衡法から算出)]を用いたこと以外は、実施例 1 と同様の方法で、アミローストリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)を得た。当該生成物の M_w/M_n は 1.47 、 M_w は $159,300$ [M_w 、 M_n の両者共に、示差屈折率測定法(ポリスチレン換算)にて測定]であった。

<多糖誘導体のシリカゲルへの担持>

上記のアミローストリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)を、実施例 1 と同様の方法で、実施例 1 で用いたのと同様のシリカゲルへ担持させた。

<光学分割カラムの作製>

上記のアミローストリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)がシリカゲルに担持されてなる分離剤を用いたこと以外は実施例 1 と同様の方法で、光学分割カラムを作製した。

<光学分割カラムの性能評価>

上記の光学分割カラムを用いて、実施例 1 と同様にして、標準化合物であるトランススチルベンオキシドの光学分割実験を行った。結果を表 1 に示す。

<低分子量多糖誘導体の溶出量の測定>

上記のアミローストリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)がシリカゲルに担持されてなる分離剤を、その長さが 25 cm 、内径が 1.0 cm のステンレススチール製カラムに、スラリー充填法で充填した。このようにして、溶出実験用光学分割カラムを作製した。

このようにして調製された溶出実験用光学分割カラムを用いて、前記用語の定

義の欄の溶出量の箇所に記載した要領にて、低分子量多糖誘導体の溶出量の測定を行った。結果を表1に示す。

実施例4

<多糖誘導体の合成>

合成単分散アミロース [$M_w/M_n < 1.1$ 、 $M_w = 74,510$ (M_w 、 M_n の両者共に、光散乱法・超遠心沈降平衡法から算出)]を用いたこと以外は、実施例1と同様の方法で、アミローストリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)を得た。当該生成物の M_w/M_n は2.21、 M_w は367,600 [M_w 、 M_n の両者共に、示差屈折率測定法(ポリスチレン換算)にて測定]であった。

<多糖誘導体のシリカゲルへの担持>

上記のアミローストリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)を、実施例1と同様の方法で、実施例1で用いたのと同様のシリカゲルへ担持させた。

<光学分割カラムの作製>

上記のアミローストリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)がシリカゲルに担持されてなる分離剤を用いたこと以外は実施例1と同様の方法で、光学分割カラムを作製した。

<光学分割カラムの性能評価>

上記の光学分割カラムを用いて、実施例1と同様にして、標準化合物であるトランススチルベンオキシドの光学分割実験を行った。結果を表1に示す。

比較例1

<多糖誘導体の合成>

分子量分布の広い天然アミロースを用いたこと以外は、実施例1と同様の方法で、アミローストリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)を得た。当該生成物の M_w/M_n は5.29、 M_w は272,700 [M_w 、 M_n の両者共に、示差屈折率測定法(ポリスチレン換算)にて測定]であった。

<多糖誘導体のシリカゲルへの担持>

上記のアミローストリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)を、実施例1と同様の方法で、実施例1で用いたのと同様のシリカゲルへ担持させた。

＜光学分割カラムの作製＞

上記のアミローストリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）がシリカゲルに担持されてなる分離剤を用いたこと以外は実施例1と同様の方法で、光学分割カラムを作製した。

＜光学分割カラムの性能評価＞

上記の光学分割カラムを用いて、実施例1と同様にして、標準化合物であるトランススチルベンオキシドの光学分割実験を行った。結果を表1に示す。

＜低分子量多糖誘導体の溶出量の測定＞

上記のアミローストリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）がシリカゲルに担持されてなる分離剤を、その長さが25cm、内径が1.0cmのステンレススチール製カラムに、スラリー充填法で充填した。このようにして、溶出実験用光学分割カラムを作製した。

このようにして調製された溶出実験用光学分割カラムを用いて、前記用語の定義の欄の溶出量の箇所に記載した要領にて、低分子量多糖誘導体の溶出量の測定を行った。結果を表1に示す。

表 1

| | 分離係数 (α) | 分離度 (Rs) | ベースラインの安定化時間(時間) | 溶出量 (mg) |
|-------|----------------------|-------------|------------------|-------------|
| 実施例 1 | 2.93 | 11.2 | 3.5 | |
| 実施例 2 | 2.79 | 10.8 | 3.5 | |
| 実施例 3 | 2.98 | 10.9 | 2.5 | 7.8 |
| 実施例 4 | 2.80 | 9.6 | 2.0 | |
| 比較例 1 | 3.05 | 11.6 | 26.0 | 76.6 |

請求の範囲

1. その分子量分布の程度を示す M_w / M_n (ここで、 M_w 及び M_n は、ポリスチレン換算の重量平均分子量及びポリスチレン換算の数平均分子量をそれぞれ示す) が 1 ~ 3 の多糖誘導体からなる分離剤。
2. 多糖誘導体が、20,000 ~ 500,000 のポリスチレン換算の重量平均分子量を有する、請求項 1 記載の分離剤。
3. 多糖誘導体がエステル誘導体またはカルバメート誘導体である、請求項 1 記載の分離剤。
4. さらに、担体を含み、多糖誘導体が担体に担持されている、請求項 1 記載の分離剤。
5. 担体が、粒径が $1 \mu m \sim 10 mm$ で、孔径が 10 オングストローム ~ $100 \mu m$ のシリカゲルである、請求項 4 記載の分離剤。
6. 液体クロマトグラフィーの充填剤として用いられる、請求項 4 記載の分離剤。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP95/01355

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ G01N30/48, C07B57/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁶ G01N30/48, C07B57/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1926 - 1995

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971 - 1995

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| A | JP, 62-230740, A (Teijin Ltd.), October 9, 1987 (09. 10. 87), Lines 7 to 12, upper left column, page 4 (Family: none) | 1 - 6 |
| P | JP, 6-279476, A (Tanaka Kikinzoku Int'l K.K.), October 4, 1994 (04. 10. 94), Line 34, column 1 to line 22, column 2 (Family: none) | 3, 4, 6 |
| P | JP, 6-329561, A (Daicel Chemical Industries, Ltd.), November 29, 1994 (29. 11. 94), Lines 21 to 25, column 1, line 47, column 4 to line 2, column 5 (Family: none) | 3 - 6 |



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

July 27, 1995 (27. 07. 95)

Date of mailing of the international search report

August 15, 1995 (15. 08. 95)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int Cl⁶ G01N30/48, C07B57/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int Cl⁶ G01N30/48, C07B57/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1995年
日本国公開実用新案公報 1971-1995年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|------------------|
| A | JP, 62-230740, A (帝人株式会社), 9. 10月. 1987 (09. 10. 87), 第4頁左上欄, 第7行-第12行 (ファミリーなし) | 1-6 |
| P | JP, 6-279476, A (田中貴金属工業株式会社), 4. 10月. 1994 (04. 10. 94), 第1欄, 第34行-第2欄, 第22行 (ファミリーなし) | 3, 4, 6 |
| P | JP, 6-329561, A (ダイセル化学工業株式会社), | 3-6 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27. 07. 95

国際調査報告の発送日

15. 08. 95

名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

柏崎康司

2 J 9 4 0 7

電話番号 03-3581-1101 内線

3251

C (続き). 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|------------------|
| | <p>29. 11月. 1994 (29. 11. 94), 第1欄, 第21行—第25行及び第4欄, 第47行—第5欄, 第2行 (ファミリーなし)</p> | |